

論文内容の要旨

論文提出者氏名 藤田 朋己

論文題目

NMII forms a contractile transcellular sarcomeric network to regulate apical cell junctions and tissue geometry (非筋 II 型ミオシンは収縮性の細胞間サルコメアネットワークを形成し細胞の頂側結合ならびに組織の形状を制御する)

論文内容の要旨

上皮細胞は頂側結合により周囲の細胞と密接に結合することで組織構築を維持し、かつ特有のバリア機能を獲得している。非筋 II 型ミオシン (non-muscle myosin II; NMII) は、上皮細胞の頂側結合に一致して局在することが知られており、細胞内のアクチン骨格に物理的収縮力を与えて、細胞形態や細胞間の力学的均衡を維持する主要な分子であると考えられている。また、NMII の遺伝子変異は難聴を初めとする種々の疾患を引き起こすことが知られている。しかしながら、NMII が上皮細胞の頂側結合部で収縮力を発揮する詳細なメカニズムや難聴を引き起こす機序については未だ判明していない。

我々はまず、マウスおよびラットの内耳組織培養を用いて、NMII の特異的阻害剤であるプレビスタチンが細胞形態並びに組織構築にどのような変化を生じるか観察した。その結果、NMII 活性を 1 時間阻害すると、内耳コルチ器の有毛細胞、支持細胞の頂側面輪郭の周囲長と面積が増大し、また有毛細胞の輪郭が円形性を失うことが判明した。さらに、NMII 阻害により形態が変化したコルチ器を、再び阻害剤を除いた培養液中で 2 時間培養すると、正常な形態に回復することが確認された。このことから、NMII は蝸牛有毛細胞ならびに支持細胞の形態およびサイズを動的に制御していることが判明した。

次にマウス内耳の免疫組織化学ならびに蛍光標識した NMIIC を発現するトランスジェニックマウスを用いて NMII の各サブタイプの内耳での発現、細胞内局在、および分子配列の極性について調べた。まず、免疫染色により NMII の 3 種のサブタイプ (NMIIA, IIB, IIC) のうち、NMIIB と NMIIC が内耳に高発現することが分かった。これらの NMII は頂側結合に沿う周期的な点として分布し、この NMII の点状局在はアクチンや α -アクチニンと交互に配置することが分かった。このことから、NMII は上皮細胞の頂側結合においても重合体を形成し、細胞頂側に存在するアクチン環と結合して筋細胞におけるサルコメアに類似した構造 (上皮系サルコメア) をとることが示唆された。また、細胞の頂側から基底側までの各断面における局在を観察すると、上皮系サルコメアはタイト結合周囲から接着帯に至るレベルまで存在することが分かった。プレビスタチンにより NMII 活性を阻害すると、互いに隣接する NMII 重合体の間隔が延長し、その程度は細胞周囲長の増大の程度に一致していた。このことから、上皮系サルコメアは筋細胞のサルコメアと同様の機構で頂側アクチン

ン環を収縮しうるということが推測された。

さらに NMII の頭部と尾部を免疫染色と蛍光標識した NMII とで二重染色することにより、各々の NMII 重合体は筋細胞サルコメアと同様の双極性フィラメントを形成していることが判明した。また、このような頂側結合における上皮系サルコメア構造は、胃、小腸、大腸の上皮細胞でも認められた。さらに興味深いことに、隣接する細胞間では、それぞれの上皮系サルコメアの各ユニットは多くの場合、頂側結合を挟んで対称的に分布していた。このことから、上皮系サルコメアは隣接する細胞同士で細胞間接着分子等を介してリンクしており、組織構築の改変において隣接する細胞が協調して変化することを可能にしていると考えられた。

更に我々は、蛍光標識 NMII と免疫染色の組み合わせにより NMII 各サブタイプの発現が細胞によって異なることを示し、また特定の NMII サブタイプの欠失マウスを用いて、NMII サブタイプが相補的に働く可能性を示した。まず外来性に発現した蛍光標識 NMIIC と NMIIB の免疫組織化学を用いた二重染色により、コルチ器の中で有毛細胞と支持細胞がモザイク状に混在する部分においては、有毛細胞で NMIIB が優位に、ダイテルス細胞 (支持細胞) では NMIIC が優位に発現していることが判明した。均一な細胞 (内指節細胞) で構成される部位では、各細胞に NMIIB/IIC が共発現していた。正常マウスにおける蝸牛上皮の免疫組織化学では NMIIA の発現はほとんど見られなかったが、NMIIC 欠失マウスの蝸牛では NMIIA の発現が認められ、また NMIIB の発現も増加していた。NMIIC 欠失マウスにおいては有毛細胞、支持細胞に明らかな形態異常は見られず、また聴覚障害も生じていなかった。この理由として NMIIC と相補的に働く NMIIA/IIB の発現が上昇することで NMIIC の機能を代償している可能性が考えられた。

以上の結果から、内耳感覚上皮をはじめとする上皮細胞の頂側結合において、NMII は筋細胞に類似したサルコメア様構造を構築して収縮力を発生し、細胞頂側面の形態および細胞間相互関係の構築に関与していることが示された。今回我々が示した上皮系サルコメア構造の存在および NMII サブタイプの細胞特異性と相補的機能は、上皮組織の発生、成熟、病態を理解する上での基盤的知見になると考えられる。